

Bacillus sp. CAMT22370源葡萄糖氧化酶对南美白对虾贮藏性能的影响

徐德峰^{1,2}, 叶日英², 李彩虹^{3,*}, 孙力军^{2,*}, 王雅玲², 莫日坚², 杨 桥¹

(1.农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 200090; 2.广东海洋大学食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088; 3.广东医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 广东 东莞 523808)

摘 要: 培养*Bacillus* sp. CAMT22370菌株并提取葡萄糖氧化酶制成质量分数0.1%的粗酶液, 分别以亚硫酸钠、植酸和VC为对照, 探讨所得葡萄糖氧化酶对南美白对虾冷藏过程中感官、质构、挥发性盐基氮含量、菌落总数等品质指标的影响。结果表明, 经葡萄糖氧化酶浸渍处理后于4℃冷藏120 h, 感官评分在10分以上, 不仅能有效防止对虾褐变, 而且对其色泽、气味、硬度、弹性、咀嚼性和黏附性等品质指标都有良好的保持作用, 显著优于空白对照组($P < 0.05$), 挥发性盐基氮含量和菌落总数分别为20.40 mg/100 g和4.41 (lg (CFU/g)), 表明*Bacillus* sp. CAMT22370源葡萄糖氧化酶对南美白对虾冷藏保鲜有一定的作用。

关键词: *Bacillus* sp. CAMT22370; 南美白对虾; 冷藏; 葡萄糖氧化酶

Effect of Glucose Oxidase from the Marine Bacterium *Bacillus* sp. CAMT22370 on Quality Preservation of Pacific White Shrimp during Cold Storage

XU Defeng^{1,2}, YE Riyang², LI Caihong^{3,*}, SUN Lijun^{2,*}, WANG Yaling², MO Rijian², YANG Qiao¹

(1. Key Laboratory of East China Sea and Oceanic Fishery Resources Exploitation and Utilization, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 3. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China)

Abstract: The effect of treatment with a novel glucose oxidase at a concentration of 0.1% (m/m) produced by the marine bacterium *Bacillus* sp. CAMT22370 in liquid-state fermentation on the sensory quality, texture, total volatile basic nitrogen (TVB-N) and total viable count (TVC) of Pacific white shrimps was evaluated as compared with sodium sulfite, phytic acid and VC. The results revealed that Pacific white shrimps exhibited more desirable appearance, especially in terms of low melanosis, when immersed into glucose oxidase solution for 5 minutes, as compared with the control group. In addition, the sensory score of the treated sample was more than 10 points after 120 h of storage at 4℃. Glucose oxidase treatment not only effectively prevented the browning of shrimps but also significantly preserved the color, odor, hardness, elasticity, chewiness and adhesiveness ($P < 0.05$). Furthermore, TVB-N and TVC values were 20.40 mg/100 g and 4.41 (lg (CFU/g)) respectively, after this period of storage. These findings indicated the glucose oxidase from *Bacillus* sp. CAMT22370 had the potential to be used for the preservation of Pacific white shrimps.

Key words: *Bacillus* sp. CAMT22370; Pacific white shrimp; cold storage; glucose oxidase

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201721041

中图分类号: TS254.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 21-0259-06

收稿日期: 2016-09-19

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31201309); 国家自然科学基金面上项目 (31371777);

广东省科技厅社会发展领域科技计划项目 (2013B021100016; 2014B020205006);

广东省教育厅创新强校工程项目 (2014KTSCX078; 2013050205; 2013050203; 2013050312);

农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室开放课题 (2014K03);

广东海洋大学大学生创新课题 (CXXL2014042); 广东医科大学面上项目 (2014003)

作者简介: 徐德峰 (1978—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为水产食品质量与安全控制。E-mail: 13827198525@163.com

*通信作者: 李彩虹 (1981—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail: smile_lee2013@163.com

孙力军 (1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产食品质量与安全控制。E-mail: suncamt@126.com

引文格式:

徐德峰, 叶日英, 李彩虹, 等. *Bacillus* sp. CAMT22370源葡萄糖氧化酶对南美白对虾贮藏性能的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 259-264. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201721041. <http://www.spkx.net.cn>

XU Defeng, YE Riying, LI Caihong, et al. Effect of glucose oxidase from the marine bacterium *Bacillus* sp. CAMT22370 on quality preservation of Pacific white shrimp during cold storage[J]. Food Science, 2017, 38(21): 259-264. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201721041. <http://www.spkx.net.cn>

葡萄糖氧化酶(glucose oxidase, GOD)能高度专一性地催化 β -D-葡萄糖与空气中的氧反应,使 β -D-葡萄糖氧化为葡萄糖酸和过氧化氢,一方面可降低食品基质中的氧分压,减轻因葡萄糖的存在而造成的褐变等品质劣变;另一方面过氧化氢在过氧化氢酶的作用下产生新生态氧,从而起到抑菌或杀菌功效^[1-2]。基于GOD良好的生物脱氧和抑菌效果,目前已在面制品^[3-6]、乳品^[7-8]、果汁^[9-10]、酒类^[11-13]等食品保鲜与品质改良领域得到广泛应用。GOD目前一般由黑曲霉或青霉属菌株采用液态发酵法制备^[14-17],但在发酵过程中较低的表达量以及较多杂蛋白给分离纯化带来较大困难,导致产品成本增高,且已报道的GOD需在30~40℃才能维持较佳催化活性^[18-19],而在0~10℃的食品冷链温度下活力相对较低。因此,基于GOD在生物体内分布的广泛性和海洋微生物低温催化活性,从代表性海洋生物资源中筛选出能产高活力GOD的微生物具有重要现实意义,而这方面的研究目前鲜有报道^[20]。本课题组前期从南海近海土壤中分离出一株产GOD的细菌,且该菌所产的GOD在较低温度下具有较好的催化活性,经系统鉴定为蜡状芽孢杆菌,命名为*Bacillus* sp. CAMT22370。

南美白对虾是目前全球对虾产业的主要品种,但其较高的水分和蛋白质含量使其在贮藏、运输、加工和销售过程中极易发生腐败变质,营养和经济价值受到极大影响^[21-22],如何维持南美白对虾冷藏过程中的品质是对虾产业所关注的重要研究课题。目前,南美白对虾保鲜主要通过物理和化学方式,物理手段主要为普通冷藏和冻藏^[23-24],化学手段主要为添加亚硫酸氢钠、植酸、4-己基间苯二酚、壳聚糖及各种植物提取物等^[25-28],但生物酶制剂的研究与应用则较为缺乏。与各种化学添加剂相比,生物酶制剂具有较高的安全性。

本实验液态培养*Bacillus* sp. CAMT22370并将发酵液粗提制备GOD,以目前常用的水产品保鲜剂为对照,通过感官评价、质构分析、挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)含量及菌落总数的测定,综合评价*Bacillus* sp. CAMT22370源GOD对南美白对虾贮藏性能的影响,为制备新型生物保鲜剂奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南美白对虾购自湛江市东海岛对虾养殖基地,挑选无机械损伤、色泽光亮、无病、大小均匀,长度在(10±1)cm,质量(11±1)g个体进行实验。

Bacillus sp. CAMT22370菌株分离自南海近海海泥,农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室保藏。

琼脂、牛肉膏蛋白胨、酵母浸膏、胰蛋白胨北京奥博星生物技术有限责任公司;氯化钠、蔗糖、葡萄糖、乙酸、三水合乙酸钠(均为分析纯)广州化学试剂厂;靛蓝胭脂红上海源叶生物科技有限公司;亚硫酸氢钠(食品级)广州市涛升化工有限公司;植酸(分析纯)广州市金华大化学试剂有限公司;VC上海试四赫维化工有限公司。

1.2 仪器与设备

IUL拍击式均质器无锡赛维科技有限公司;KDN-812定氮仪、全自动蒸馏仪上海洪纪仪器设备有限公司;TMS-PRO质构仪美国FTC公司;LDZX-50KBS立式压力蒸汽灭菌器上海申安医疗器械厂;KKE29247TI冰箱博西华家用电器有限公司;V5000可见分光光度计上海元析仪器厂;VS-840-1净化工作台、SPX-250B-Z恒温培养箱上海博迅实业有限公司医疗设备厂;HZQ-F160恒温振荡培养箱金坛市万华实验仪器厂;2-16KL高速冷冻离心机德国Sigma公司;BSA224S-CW电子天平德国Sartorius公司。

1.3 方法

1.3.1 GOD的制备

参照朱运平等^[15]的方法。将*Bacillus* sp. CAMT22370菌株用斜面营养肉汤(Luria bertani, LB)培养基进行活化,之后将菌株在LB液态培养基中于28℃、150 r/min的条件下培养72 h,8 000 r/min冷冻离心5 min去除菌体,上清液采用硫酸铵沉淀得到粗酶液,按顾磊^[14]方法测得粗酶液酶活力为12.5 U/mL。

1.3.2 保鲜剂的配制

以目前水产品保鲜中常用的保鲜剂亚硫酸氢钠、植酸、VC为对照,参照文献[16-17]分别配制成

0.2 g/100 mL溶液；以蒸馏水为空白对照组；GOD处理组采用的保鲜剂为质量分数0.1%的所制备粗酶液。

1.3.3 南美白对虾预处理

鲜活南美白对虾置于冰块中猝死，清水冲洗干净，擦干后进行分组，共5组，每组20尾，分别用保鲜剂浸泡处理5 min，1 g对虾添加1 mL的保鲜剂，用筛绢沥干浸泡液后装入保鲜盒，按保鲜剂种类分别标记为GOD、植酸、亚硫酸氢钠、VC以及空白对照，之后放于4℃冰箱冷藏。在120 h贮藏期内，每24 h取样观察测定对虾感官指标、质构参数、TVB-N含量和可培养菌落总数。

1.3.4 南美白对虾指标测定

感官评价参照陈淑湘^[24]的方法，以色泽、气味和体态（体表与肌肉）3项指标为感官评分标准，采用5分制设计感官评分。质构分析参照文献[11,13,16]，从各保鲜盒中选取大小一致的南美白对虾，去掉头、尾和外壳，选择并安装针形探头，在质构仪TPA程序下设置参数：自动调零（1 000 N），样品高度12 mm，形变量50%，测试速率60 mm/min，起始力0.2 N，分别测定虾体第二关节处的第一峰值硬度、弹性、黏附性、咀嚼性、内聚性和胶黏性。TVB-N含量测定参照凌萍华等^[25]的方法，南美白对虾可食肌肉部分切碎，称取试样10 g于定氮仪全自动蒸馏装置消化管中进行反应，吸收液用盐酸标准溶液滴定至蓝紫色终点，同时用高氯酸溶液进行空白实验，记录消耗盐酸的量。菌落总数测定参照张军宁^[23]的方法，按平板培养计数法进行菌落总数的测定。所有测定平行3次。

1.4 统计分析

数据采用平均值±标准差表示，SPSS 16.0软件中单因素方差分析程序进行统计学差异分析，采用最小显著极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同保鲜剂对南美白对虾冷藏过程中感官品质的影响

综合表1和图1可看出，亚硫酸氢钠、植酸、VC以及GOD在48 h内都有良好的保鲜效果，可以有效防止南美白对虾的褐变作用，在色泽、气味和体态方面仍能保持对虾的一级鲜度，并且这几种保鲜剂的保鲜效果前期差异不大，适合对虾48 h内短期保鲜。但冷藏72 h后，亚硫酸氢钠的保鲜效果变差，气味和机体弹性低于其他保鲜剂处理组，体表有变白迹象。植酸与VC保鲜效果较接近，但VC抑制南美白对虾褐变能力较低，肉质弹性的保持作用也较弱，体色变黄。植酸感官的综合评分也较高，仅次于GOD，可能源于植酸对Ca²⁺有很强的结合能

力，能有效抑制酶的活力，减轻蛋白酶所致的蛋白质降解，利于对虾体态的维持。GOD处理组对虾各项感官性能优良，不仅原有色泽保持良好，而且鲜味和弹性保持较好，冷藏至96 h时仍能使对虾保持二级鲜度，感官评价总分维持在10分以上，其机制可能在于GOD作为一种理想的除氧保鲜剂，一方面可以氧化葡萄糖，产生葡萄糖酸，使对虾体表pH值降低，有效抑制细菌生长，另一方面减少了体系氧气含量，影响了脂肪氧合酶、多酚氧化酶的活力，从而有效抑制褐变的发生及发展，其机理在抑制果汁褐变的研究中得到确证^[9-10]。

表1 保鲜剂处理对南美白对虾冷藏期间感官品质的影响
Table 1 Effect of preservatives on sensory quality of Pacific white shrimps during cold storage

冷藏时间/h	空白对照	亚硫酸氢钠	植酸	VC	GOD
24	新鲜	新鲜	新鲜	新鲜	新鲜
48	较新鲜、弹性变差、头微红	较新鲜	较新鲜	较新鲜	新鲜
72	微臭味、头部变红、弹性变差	眼无光泽、体变白、弹性变差、头微红	眼无光泽、头微红	眼无光泽、体变黄、头微红	较新鲜
96	有臭味、头部发黑、身体有黑斑、变软	有异味、头部发红、身体微黑斑并变软	有异味、头部局部发红、弹性变差	有异味、头部发红、身体失去弹性	尚有弹性、头微红
120	臭味重、头部身体黑斑重、有黑水	有臭味、头部有黑斑、身体黑斑较多	有臭味、头部有黑斑、身体变软	有臭味、头部有黑斑、身体微黑斑	有异味、头部发红

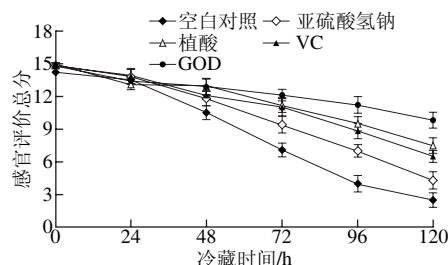


图1 不同保鲜剂对南美白对虾冷藏过程中感官得分的影响

Fig. 1 Effect of preservatives on sensory scores of Pacific white shrimps during cold storage

2.2 不同保鲜剂对南美白对虾冷藏过程中质构特性的影响

质构分析通过测量压力响应来客观评价产品品质相关的力学特性^[24-26]，因此通过质构仪对南美白对虾在4℃冷藏过程中不同保鲜剂处理进行量化测定，可为感官评价提供更可靠的数据支撑。

从表2可看出，随着冷藏时间的延长，虾体第一峰值硬度、弹性、黏附性、咀嚼性、内聚性和胶黏性等品质指标均呈下降趋势，但经保鲜剂处理后可降低品质劣变速度，且不同保鲜剂处理间存在差异。在硬度方面，空白对照组下降最明显，到120 h时硬度测定值为1.81 N，亚硫酸氢钠、植酸、VC和GOD处理组的硬度分别下降

至2.08、2.23、2.17 N和2.33 N，可见GOD硬度保持作用最好。弹性表示虾体在经过针形探头的形变压力后其回复的程度^[24]，其中空白对照组的弹性下降变化最大，经过120 h的冷藏，下降到4.10 mm，而亚硫酸氢钠、植酸、VC和GOD处理组分别下降到5.19、5.15、5.13 mm和5.36 mm，说明GOD对弹性保持作用最好。黏附性为虾体附着在物体上时，使其剥离所需的能量，反映了虾壳与肌肉间的连接紧密程度^[25]。由表2可知，黏附性随时间的延长而减小，初始黏附性值约为0.24 N·s左右，在120 h时空白对照组下降到0.17 N·s，亚硫酸氢钠、植酸、VC和GOD处理组分别为0.18、0.19、0.19、0.21 N·s，表明GOD能较好保持虾壳与肌肉间的联系。咀嚼性反映虾体完成咀嚼至能够吞咽的过程所需要的能量，是虾体的硬度、内聚性和弹性等因素综合作用的结果^[26]，表2中空白对照组、亚硫酸氢钠、植酸、VC和GOD处理组的测量值由初始的约11.4 N·mm左右降至4.49、5.77、6.29、5.98、6.95 N·mm，表明GOD处理对咀嚼性的保持最佳。内聚性和胶黏性分别表示维持虾体形态的内部结合力和虾体破裂至可吞咽过程的能量^[5,15]，这两种特性的测量值都随着冷藏时间的延长而减少，由表2可以看出，GOD可较好延缓这两项指标下降速率和程度，表明GOD对南美白对虾的内聚性和胶黏性有更好的保持效果。相似结果在付璐璐等^[29]的研究中也有体现，当金线鱼鱼糜中添加0.05% GOD时可促进金线鱼鱼糜蛋白中巯基的氧化交联，显著改善鱼糜凝胶力学特性。

将表2数据进行差值化获得表3，可更清晰地发现不同保鲜剂对南美白对虾冷藏过程中质构指标保持能力的差异，其差值越大表明保持能力越弱。由表3可知，在硬度方面GOD差值最小，显著优于空白对照组（ $P<0.05$ ），其次是植酸和亚硫酸氢钠，而VC处理效果不明显（ $P>0.05$ ）。在弹性保持方面各保鲜剂处理组均有良好表现，其中以植酸最优。在黏附性方面，较空白对照组，只有GOD显著抑制了品质下降（ $P<0.05$ ），其他保鲜剂在黏附性上几乎无效果。咀嚼性方面各处理组较空白对照组有提升，但除GOD处理组外均未达到显著性水平（ $P>0.05$ ），且效果基本相近。在内聚性和胶黏性方面仍是GOD表现最优，与空白对照组相比显著保持了品质指标（ $P<0.05$ ），其次是VC和植酸组，而亚硫酸氢钠组保护效果则相对较弱。综合比较后发现，GOD处理可较好抑制南美白对虾冷藏期间力学品质劣变。

表2 不同保鲜剂处理对南美白对虾冷藏过程中质构特性的影响
Table 2 Effect of preservatives on texture profile characteristics of Pacific white shrimps during cold storage

组别	冷藏时间/h	第一峰值硬度/N	弹性/mm	黏附性/(N·s)	咀嚼性/(N·mm)	内聚性	胶黏性/N
空白对照	0	3.12±0.43	6.99±0.78	0.24±0.03	11.43±0.53	0.66±0.03	2.18±0.13
	24	2.71±0.26	6.49±0.81	0.21±0.03	10.16±0.62	0.58±0.02	2.06±0.11
	48	2.43±0.41	5.41±0.79	0.21±0.02	8.48±0.53	0.51±0.03	1.87±0.08
	72	2.32±0.33	5.15±0.63	0.19±0.03	6.63±0.51	0.45±0.03	1.56±0.07
	96	2.06±0.32	4.95±0.71	0.18±0.01	5.15±0.64	0.43±0.02	1.35±0.13
	120	1.81±0.29	4.10±0.62	0.17±0.02	4.49±0.73	0.40±0.03	0.92±0.12
亚硫酸氢钠	0	3.12±0.40	7.21±0.65	0.24±0.01	11.38±0.83	0.62±0.03	2.18±0.11
	24	2.91±0.33	6.73±0.68	0.21±0.03	10.52±0.88	0.59±0.02	2.14±0.07
	48	2.41±0.45	6.12±0.63	0.20±0.04	9.53±0.74	0.53±0.04	1.91±0.13
	72	2.30±0.32	5.72±0.70	0.20±0.03	8.70±0.69	0.47±0.03	1.72±0.07
	96	2.13±0.36	5.50±0.53	0.19±0.02	7.31±0.73	0.44±0.04	1.51±0.06
	120	2.08±0.43	5.19±0.82	0.18±0.03	5.77±0.77	0.42±0.03	1.32±0.06
植酸	0	3.21±0.41	6.93±0.87	0.25±0.03	11.19±0.83	0.63±0.05	2.20±0.07
	24	2.92±0.42	6.86±0.73	0.23±0.02	10.53±0.86	0.61±0.03	2.13±0.08
	48	2.73±0.38	5.25±0.81	0.22±0.04	9.55±0.72	0.58±0.03	2.05±0.11
	72	2.41±0.43	5.82±0.61	0.21±0.03	8.11±0.83	0.54±0.02	1.92±0.13
	96	2.22±0.44	5.78±0.69	0.20±0.02	7.92±0.71	0.50±0.03	1.74±0.08
	120	2.23±0.26	5.15±0.66	0.19±0.03	6.29±0.73	0.45±0.02	1.65±0.07
VC	0	3.32±0.43	6.92±0.73	0.25±0.03	11.74±0.73	0.61±0.03	2.23±0.11
	24	3.01±0.32	6.64±0.80	0.23±0.03	10.45±0.81	0.59±0.03	2.18±0.13
	48	2.71±0.33	6.12±0.71	0.21±0.01	9.51±0.82	0.56±0.02	2.07±0.09
	72	2.32±0.35	5.57±0.72	0.20±0.03	8.68±0.79	0.53±0.01	1.83±0.13
	96	2.25±0.33	5.36±0.65	0.20±0.02	6.40±0.73	0.46±0.03	1.64±0.07
	120	2.17±0.41	5.13±0.62	0.19±0.03	5.98±0.76	0.44±0.04	1.49±0.12
GOD	0	3.21±0.43	7.19±0.73	0.24±0.03	11.29±0.74	0.62±0.03	2.25±0.13
	24	3.04±0.38	6.93±0.80	0.23±0.01	10.52±0.73	0.60±0.02	2.16±0.07
	48	2.92±0.33	6.31±0.81	0.23±0.03	9.56±0.75	0.58±0.03	2.12±0.11
	72	2.55±0.32	5.90±0.83	0.22±0.02	8.73±0.81	0.54±0.04	2.05±0.08
	96	2.41±0.43	5.87±0.77	0.22±0.04	7.26±0.80	0.52±0.02	2.01±0.12
	120	2.33±0.40	5.36±0.71	0.21±0.01	6.95±0.79	0.46±0.03	1.91±0.08

表3 不同保鲜剂处理对南美白对虾冷藏期间质构参数变化差值的影响
Table 3 Effect of preservatives on changes in texture parameters of Pacific white shrimps after 120 h of cold storage

组别	第一峰值硬度/N	弹性/mm	黏附性/(N·s)	咀嚼性/(N·mm)	内聚性	胶黏性/N
空白对照	1.31±0.17 ^a	2.89±0.11 ^a	0.07±0.01 ^a	6.94±0.45 ^a	0.26±0.01 ^a	1.26±0.14 ^a
亚硫酸氢钠	1.04±0.16 ^{ab}	2.02±0.19 ^b	0.06±0.01 ^a	5.61±0.56 ^a	0.20±0.02 ^a	0.86±0.11 ^{ab}
植酸	0.98±0.12 ^{ab}	1.78±0.18 ^b	0.06±0.01 ^a	5.90±0.52 ^a	0.18±0.02 ^{ab}	0.55±0.15 ^b
VC	1.15±0.16 ^a	1.79±0.18 ^b	0.06±0.01 ^a	5.76±0.61 ^a	0.17±0.03 ^b	0.74±0.13 ^b
GOD	0.88±0.17 ^b	1.83±0.19 ^b	0.03±0.01 ^b	5.34±0.40 ^b	0.16±0.02 ^b	0.34±0.12 ^b

注：同列肩标小写字母不同表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

2.3 不同保鲜剂对南美白对虾冷藏过程中TVB-N含量影响

TVB-N是表示水产品腐败程度的重要指标，南美白对虾死亡后在酶和微生物的分解下，产生挥发性氨和胺类含氮物，作为反映对虾品质下降程度的标准。Okpala等^[22]研究表明，TVB-N含量小于等于20 mg/100 g为一级鲜度，小于20~30 mg/100 g为可食用鲜度，大于等于30 mg/100 g为不可食用。从图2可以看出，鲜对虾的

TVB-N初始含量为6.8 mg/100 g左右, TVB-N含量随时间的延长而增大, 空白对照组尤为明显, 到48 h超出一级鲜度限值, 在72 h为39.1 mg/100 g, 超出可食用范围, 说明在没有任何保鲜剂的处理下, 南美白对虾在4 °C冷藏超过72 h已无法食用, 而保鲜剂处理抑制了南美白对虾TVB-N含量增加, 其中亚硫酸氢钠和VC的效果较为接近, 在72 h分别为26.9 mg/100 g和24.6 mg/100 g, 在96 h后达到不可食用限值。植酸处理组在72 h时为19.8 mg/100 g仍是一级鲜度, 到120 h才不可食用; GOD处理组到120 h时为20.4 mg/100 g, 仍可保持二级鲜度, 贮藏时间得到延长, 且TVB-N含量增长缓慢, 说明GOD具有良好的保鲜能力。

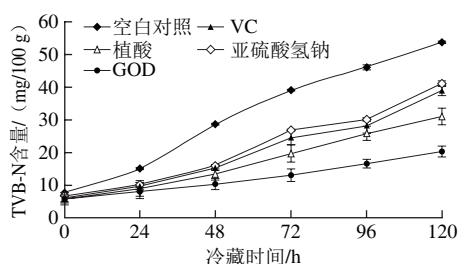


图2 不同保鲜剂对南美白对虾冷藏过程中TVB-N含量的影响

Fig. 2 Effect of preservatives on total volatile basic nitrogen content of Pacific white shrimps during cold storage

2.4 不同保鲜剂对南美白对虾冷藏条件下的菌落总数影响

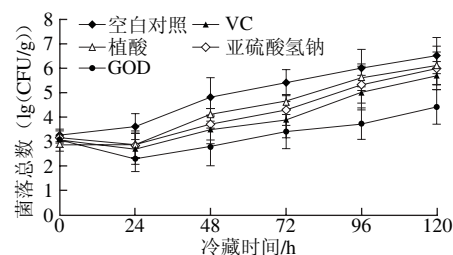


图3 南美白对虾冷藏条件下菌落总数变化

Fig. 3 Effect of preservatives on total bacterial counts of Pacific white shrimps during cold storage

菌落总数与南美白对虾初始细菌群落种类、数量及贮藏环境息息相关, 是对南美白对虾保鲜效果最直观的评价指标。多项研究表明^[22-25,30], 对虾菌落总数小于等于5.0 (lg (CFU/g)) 为一级鲜度, 小于5.0~6.0 (lg (CFU/g)) 为二级鲜度, 大于6.0 (lg (CFU/g)) 时为腐败不可食用。分析图3可知, 南美白对虾初始菌落总数为3.08 (lg (CFU/g)) 左右, 空白对照组菌落总数随时间的延长而增大, 96 h时达到6.1 (lg (CFU/g)), 失去商品价值, 而保鲜剂处理组表现出明显的抑菌作用, 且不同保鲜剂对微生物抑制能力有明显差异, 在120 h时VC、植酸和亚硫酸氢钠虽然能把对虾菌落总数控

制在6.0 (lg (CFU/g)) 以下, 但从总体上看, 这3类保鲜剂只能将产品等级维持在二级鲜度水平, 而GOD到120 h时菌落总数为4.41 (lg (CFU/g)), 从微生物指标来讲仍属一级鲜度, 显然GOD具有更好的抑菌效果。

3 结论

与0.2 g/100 mL亚硫酸氢钠、植酸和VC相比, *Bacillus* sp. CAMT22370源GOD粗酶液(质量分数为0.1%)处理对南美白对虾在4 °C冷藏期间的品质劣变有更好的抑制作用, 在历经120 h的冷藏过程中可显著抑制南美白对虾褐变的发生发展 ($P < 0.05$), 对硬度、弹性、咀嚼性、黏弹性等质构特性均具有良好的保持效果, 能有效降低TVB-N的产生并抑制微生物生长, 表明*Bacillus* sp. CAMT22370菌株提取的GOD相比其他常用保鲜剂对南美白对虾具有更优越的保藏性能, 有进一步开发利用的潜力。

参考文献:

- [1] BANKAR S B, BULE M V, SINGHAL R S, et al. Glucose oxidase: an overview[J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(4): 489-501. DOI:10.1016/j.biotechadv.2009.04.003.
- [2] GE L, ZHAO Y S, MO T, et al. Immobilization of glucose oxidase in electrospon nanofibrous membranes for food preservation[J]. *Food Control*, 2012, 26(1): 188-193. DOI:10.1016/j.foodcont.2012.01.022.
- [3] 刘燕琪, 李梦琴, 周玉瑾, 等. 葡萄糖氧化酶对面团水分状态及蛋白质结构的影响[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(10): 126-133; 140. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.10.022.
- [4] YANG T Y, BAI Y X, WU F F, et al. Combined effects of glucose oxidase, papain and xylanase on browning inhibition and characteristics of fresh whole wheat dough[J]. *Journal of Cereal Science*, 2014, 60(1): 249-254. DOI:10.1016/j.jcs.2014.04.002.
- [5] TANG L L, YANG R J, HUA X, et al. Preparation of immobilized glucose oxidase and its application in improving breadmaking quality of commercial wheat flour[J]. *Food Chemistry*, 2014, 161: 1-7. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.03.104.
- [6] AMIRI A, SHAAEDI M, KADIVAR M. Evaluation of physicochemical properties of gluten modified by glucose oxidase and xylanase[J]. *Journal of Cereal Science*, 2016, 71: 37-42. DOI:10.1016/j.jcs.2016.07.013.
- [7] BATISTA A L D, SILVA R, CAPPATO L P, et al. Quality parameters of probiotic yogurt added to glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analyses[J]. *Food Research International*, 2015, 77(3): 627-635. DOI:10.1016/j.foodres.2015.08.017.
- [8] CRUZ A G, CASTRO W F, FARIA J A F, et al. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage[J]. *Food Research International*, 2013, 51(2): 723-728. DOI:10.1016/j.foodres.2013.01.028.
- [9] 许培振, 罗昱, 林梓, 等. 响应面优化葡萄糖氧化酶抑制刺梨果汁褐变工艺[J]. *食品科学*, 2016, 37(24): 55-60. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201624008.

- [10] 马清河, 胡常英, 刘丽娜, 等. 葡萄糖氧化酶在果汁保鲜中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2005(3): 83-85. DOI:10.3969/j.issn.1006-2513.
- [11] 兰蓉, 李双石, 辛秀兰. 葡萄糖氧化酶对蓝莓酒贮藏过程中香气成分的影响[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(7): 110-114. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2015.07.030.
- [12] 兰蓉, 吴志明, 张立秋. 葡萄糖氧化酶等天然保鲜剂对树莓保鲜效果的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 308-313. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2014.22.059.
- [13] RÖCKER J, SCHMITT M, PASCH L, et al. The use of glucose oxidase and catalase for the enzymatic reduction of the potential ethanol content in wine[J]. Food Chemistry, 2016, 210: 660-670. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.04.093.
- [14] 顾磊. *Aspergillus niger*葡萄糖氧化酶的异源分泌表达、分子改造和发酵生产[D]. 无锡: 江南大学, 2014: 4-6.
- [15] 朱运平, 褚文丹, 李秀婷, 等. 1 株产胞外葡萄糖氧化酶黑曲霉的液体发酵条件优化[J]. 中国食品学报, 2014, 14(5): 90-97. DOI:10.16429/j.1009-7848.2014.05.009.
- [16] 范新蕾, 肖成建, 顾秋亚, 等. ARTP诱变选育葡萄糖氧化酶高产菌株及发酵条件优化[J]. 工业微生物, 2015, 45(1): 15-19. DOI:10.3969/j.issn.1001-6678.2015. 01. 003.
- [17] MIRÓN J, VÁZQUEZ J A, GONZÁLEZ P M P, et al. Joint effect of nitrogen and phosphorous on glucose oxidase production by *Aspergillus niger*: discussion of an experimental design with a risk of co-linearity[J]. Biochemical Engineering Journal, 2008, 40(1): 54-63. DOI:10.1016/j.bej.2007.11.014.
- [18] 肖成建, 陈楠, 江慰, 等. ARTP 诱变及高效筛选高产葡萄糖氧化酶菌株[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(5): 525-530.
- [19] 王文婷, 赵伟, 章魁普, 等. 不同来源葡萄糖氧化酶的分离纯化及其生物催化特性[J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2016, 42(4): 484-491. DOI:10.14135/j.cnki.1006-3080.2016.04.008.
- [20] 郭云瑕, 孙钰婷, 辛颖, 等. 葡萄糖氧化酶产生菌的紫外诱变及发酵条件优化[J]. 食品科技, 2016, 41(5): 2-5. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2016.05.001.
- [21] 石淑钰, 张庆芳, 迟乃玉, 等. 一株海洋低温葡萄糖氧化酶菌株的筛选、鉴定及部分酶学性质[J]. 微生物学通报, 2014, 41(5): 832-838. DOI:10.13344/j.microbiol.china.130773.
- [22] OKPALA C O R, CHOO W S, DYKEZ G A. Quality and shelf life assessment of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) freshly harvested and stored on ice[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 55(1): 110-116. DOI:10.1016/j.lwt.2013.07.020.
- [23] 张军宁. 凡纳滨对虾复合保鲜剂的研制及其抑菌机理初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012: 55-63.
- [24] 陈淑湘. 不同冷藏条件对凡纳滨对虾品质的影响[D]. 海口: 海南大学, 2012: 23-40.
- [25] 凌萍华, 谢晶. 冰温技术结合保鲜剂对南美白对虾品质的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 280-284. DOI:1002-6630(2010)14-0280-05.
- [26] GAO F Y, LÜ H, TANG W Y, et al. Effect of chitosan coating combined with pomegranate peel extract on the quality of Pacific white shrimp during iced storage[J]. Food Control, 2016, 59: 818-823. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.07.011.
- [27] QIAN Y F, XIE J, YANG S P, et al. Inhibitory effect of a quercetin-based soaking formulation and modified atmospheric packaging (MAP) on muscle degradation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 63(2): 1339-1346. DOI:10.1016/j.lwt.2015.03.077.
- [28] MOHEBI E, SHAHBZAI Y. Application of chitosan and gelatin based active packaging films for peeled shrimp preservation: a novel functional wrapping design[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 76: 108-116. DOI:10.1016/j.lwt.2016.10.062.
- [29] 付璐璐, 黄建联, 赵建新, 等. 葡萄糖氧化酶对金线鱼鱼糜凝胶特性的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(8): 59-64. DOI:10.16429/j.1009-7848.2016.08.009.
- [30] ARANCIBIA M Y, LÓPEZ-CABALLERO M E, GÓMEZ-GUILLEN M C, et al. Chitosan coatings enriched with active shrimp waste for shrimp preservation[J]. Food Control, 2015, 54: 259-266. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.02.004.